



# Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas

Juliane Ludwig<sup>1</sup>, Andréa B. Moura<sup>2</sup> & Cesar B. Gomes<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Anhanguera Uniderp, Rua Alexandre Herculano, 1400, Jardim Veraneio, 79037-280, Campo Grande, MS;

<sup>2</sup>Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, 96010-970, Pelotas, RS; <sup>3</sup>Embrapa Clima Temperado, Caixa Postal 403, 960001-970, Pelotas, RS

Autora para correspondência: Andréa B. Moura, e-mail: abmoura@ufpel.edu.br

## RESUMO

Avaliou-se o potencial de oito isolados de rizobactérias que eficientemente controlam doenças fúngicas em arroz [DFs185 (*Pseudomonas synxantha*), DFs223 (*P. fluorescens*), DFs306 (não identificado), DFs416, DFs418 e DFs419 (*Bacillus* sp.), DFs422 (*Bacillus subtilis*), DFs471 (*Stenotrophomonas malthophilia*)] no controle de *Meloidogyne graminicola*, *in vitro*, e em arroz irrigado em casa de vegetação. As rizobactérias DFs185, DFs223, DFs306 e DFs416 se destacaram na redução da eclosão e no aumento da mortalidade de J2 de *M. graminicola*. Todas as rizobactérias foram capazes de produzir pelo menos um composto associado ao biocontrole de nematoides (quitinases, fosfatases, lipases, proteinases e sideróforos). O número de galhas e de ovos de *M. graminicola* em plantas de arroz foi reduzido em relação às plantas vindas de sementes não microbiolizadas. O fator de reprodução do nematoide foi reduzido, em média, em 29%, com destaque para as rizobactérias DFs185 e DFs223 que proporcionaram redução de 35%. Esse resultado é significativo, porque são rizobactérias que também controlam doenças fúngicas.

**Palavras-chave:** *Meloidogyne graminicola*, *Oryza sativa*, controle biológico.

## ABSTRACT

### Potential of microbiolization of rice seeds with rhizobacteria for root-knot nematode biocontrol

The potential of eight rhizobacteria that effectively control fungal diseases in rice [DFs185 (*Pseudomonas synxantha*), DFs223 (*P. fluorescens*), DFs306 (not identified), DFs416, DFs418 e DFs419 (*Bacillus* sp.), DFs422 (*Bacillus subtilis*), DFs471 (*Stenotrophomonas malthophilia*)] was evaluated for the control of *Meloidogyne graminicola* *in vitro* and in irrigated rice in the greenhouse. The rhizobacteria DFs185, DFs223, DFs306, DFs416 and DFs419 exceeded in reducing hatching and in increasing the mortality of *M. graminicola* J2. All rhizobacteria were able to produce at least one compound associated with the biocontrol of nematodes (chitinases, phosphatases, lipases, proteinases and siderophores). The number of eggs and galls of *M. graminicola* in rice plants was reduced compared to plants from seeds not microbiolized. The nematode reproduction factor was reduced on average by 29%, highlighting rhizobacteria DFs185 and DFs223 that reduced 35%. This result is significant because the rhizobacteria also control fungal diseases.

**Key words:** *Meloidogyne graminicola*, *Oryza sativa*, biological control.

Os nematoides das galhas podem limitar a produção de arroz, ao reduzir a absorção de nutrientes, levando as plantas, em alguns casos, à morte (Soriano & Reversat, 2003). *Meloidogyne graminicola* Golden & Birchfield é considerada a espécie mais danosa associada ao arroz irrigado (Soriano & Reversat, 2003). Esse patógeno pode sobreviver no solo em áreas úmidas, por até cinco meses, na forma de juvenil de segundo estágio (J2) (Bridge & Page, 1982) e por até 14 meses em massas de ovos (Roy, 1982). A reprodução em outras plantas, cultivadas e daninhas, também pode garantir a sua sobrevivência no período de entressafra (Dabur et al., 2004).

Perdas causadas pelo nematoide das galhas variam em função do grau de resistência das plantas, da sua

população no solo e do manejo da irrigação. Apesar do uso de resistência genética ser uma das principais medidas de controle, não existem genótipos resistentes a *M. graminicola* no mercado brasileiro (Steffen et al., 2008). Outra prática de manejo consiste no uso de produtos químicos. Apesar de utilizados, os nematicidas apresentam limitações como a natureza temporária do controle, o alto custo, o acúmulo do produto no solo e os riscos a saúde e ao ambiente (Nordmeyer & Dickson, 1985; Dong & Zhang, 2006).

O controle biológico tem sido investigado como alternativa de manejo (Padgham & Sikora, 2007). Entre os biocontroladores estudados, as bactérias habitantes da rizosfera (rizobactérias) apresentam grande potencial. Estas podem atuar como indutores de resistência da planta (Oostendorp & Sikora, 1990), produzir enzimas e metabólitos tóxicos (Lian et al., 2007), além de alterar os exsudatos radiculares, inibindo a eclosão de ovos e/

Parte da Tese de Doutorado da primeira autora. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas RS. 2009.

ou reduzindo a atratividade dos nematoides para as raízes (Becker et al., 1988).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de rizobactérias, eficientes biocontroladoras de doenças foliares, no controle *in vitro* e em casa de vegetação de *M. graminicola*.

O inóculo de *M. graminicola* foi obtido a partir de população pura em plantas de arroz. Os ovos foram extraídos de raízes infectadas segundo metodologia de Hussey & Baker (1973). Parte da suspensão dos ovos foi incubada em funil de Baermann modificado (Christie & Perry, 1951) a 26°C por 24 horas para obtenção dos juvenis de segundo estágio (J2).

As bactérias utilizadas foram: DFs185 [*Pseudomonas synxantha* (Ehrenberg) Holland], DFs223 (*Pseudomonas fluorescens* Migula), DFs416, DFs418 e DFs419 (*Bacillus* sp. Cohn), DFs422 [*Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Holland] e DFs471 (*Stenotrophomonas maltophilia* [Hugh] Palleroni & Bradbury), identificadas por sequenciamento do gene 16S rDNA (dados não publicados) e DFs306 (não identificada). Estas bactérias foram selecionadas em trabalhos anteriores para o controle de mancha parda, escaldadura (Ludwig et al., 2009) e queima da bainha do arroz (Ludwig & Moura, 2007). Em todos os ensaios, as bactérias foram previamente cultivadas em meio 523 (Kado & Heskett, 1970) a 28°C por 24 horas. Em seguida, foram preparadas suspensões dessas culturas, em solução salina (NaCl 0,85%), sendo a concentração ajustada para  $A_{540}=0,5$ .

Para avaliar a eclosão de J2, foram usados ovos do nematoide em dois estádios: maduros (embriões móveis) e imaturos (embriões imóveis) (Carneiro & Gomes, 1993). Em 50 µL de água destilada esterilizada (ADE) foram colocados 60 ovos de cada estágio, separadamente, em cavidade de placa de microtitulação. Foram adicionados 50 µL de suspensão de cada bactéria, constituindo cada uma destas um tratamento. Como testemunha, foram usados 60 ovos, de cada estágio, em suspensão contendo 50 µL de ADE e 50 µL de solução salina. As placas foram mantidas no escuro a 26°C por 16 dias. O número de J2 eclodidos foi avaliado em microscópio estereoscópico aos 5, 8, 12 e 16 dias e a área abaixo da curva de progresso da eclosão (AACPE) foi calculada.

Para avaliar a mortalidade de J2 utilizou-se metodologia similar à da avaliação de eclosão. Foram utilizados 50 J2 ao invés de ovos do nematoide. Decorridas 24 e 48 horas, observou-se em microscópio estereoscópico o número de J2 mortos, ou seja, os que permaneceram com o corpo completamente distendido por 3 min após a adição de 10 µL de solução a NaOH 1N (Chen & Dickson, 2000).

A produção de fosfatases, lipases, quitinases, sideróforos (Cattelan, 1999) e proteinases (Schaad et al., 2001) pelas bactérias foi avaliada.

O impacto da microbiolização das sementes sobre a reprodução de *M. graminicola* foi avaliado. Para tanto, sementes de arroz cv. El Passo L144 foram imersas em suspensões bacterianas e agitadas a 100 rpm por 30 min

a 10°C. Como testemunhas, sementes foram imersas e agitadas em solução salina. Cinco sementes foram depositadas em vasos contendo 700 mL de solo autoclavado (121°C e 1,5 atm por 1 h, três vezes com descanso de 24 h entre cada autoclavagem). Após a emissão da segunda folha foi mantida uma planta por vaso. O delineamento usado foi inteiramente casualizado com seis repetições.

Após a emissão da quarta folha o solo foi infestado com 10 mL de suspensão aquosa de *M. graminicola* (5.000 ovos + J2) e encharcado 24 h após a infestação. O número de perfilhos (NP), a altura (H), massa da matéria fresca da parte aérea (MFA) e das raízes (MFR) foram avaliados aos 50 dias após a infestação.

A contagem do número de galhas (NG) foi realizada em microscópio estereoscópico. Em seguida, as raízes foram processadas (Hussey & Baker, 1973) e o número de ovos (NO) foi determinado. Foi calculado o fator de reprodução (FR) do nematoide ( $FR = N_f/N_i$ , em que  $N_f$  = número final de ovos por sistema radicular e  $N_i$  = número inicial de ovos por sistema radicular).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso nos ensaios *in vitro* e em casa de vegetação, com quatro e seis repetições respectivamente. Os valores de AACPE, de mortalidade, NG e NO foram transformados para  $\sqrt{x+1}$ . Foi realizada a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

Todos os tratamentos com rizobactérias diferiram da testemunha quanto à eclosão de J2 ao 16º dia, independente do estágio de maturação dos ovos (Tabela 1). O maior impacto na eclosão de ovos imaturos foi proporcionado pelas rizobactérias DFs185, DFs418 e DFs422 atingindo 27, 24 e 22% de controle, respectivamente. As bactérias DFs223, DFs306 e DFs416 apresentaram maior efeito sobre a eclosão de ovos maduros, chegando a reduzir a eclosão de ovos maduros em 32, 25 e 29%, respectivamente.

O progresso da eclosão de J2, expresso pela AACPE, foi similar ao verificado para eclosão no último dia de avaliação (16º) (Tabela 1). A maioria dos tratamentos bacterianos diferiu da testemunha, no entanto, a rizobactéria DFs185 se destacou na redução da AACPE dos ovos imaturos, alcançando 36% de inibição da eclosão. Em ovos maduros, todas as rizobactérias diferiram significativamente da testemunha, proporcionando, em média, redução de 27%.

Também foi observado aumento da mortalidade para a maioria das bactérias nas primeiras 24 horas, sendo as maiores porcentagens proporcionadas pelas bactérias DFs223, DFs306, DFs416 e DFs419, que possibilitaram aumento na mortalidade de J2 de 3,8 a 4,5 vezes (Tabela 1). O aumento da exposição para 48 horas resultou em maior mortalidade para todas as rizobactérias, sendo os maiores aumentos (diferença entre incubação a 24 e 48 horas) proporcionados pelos tratamentos DFs185 e DFs418.

Todas as bactérias produziram pelo menos uma das enzimas avaliadas, exceto DFs306 (dados não apresentados). As bactérias DFs416, DFs418, DFs419, DFs422 e DFs471

**TABELA 1** - Ecloração (%), área abaixo da curva de progresso da ecloração (AACPE) e mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne graminicola* expostos a rizobactérias *in vitro*. Número de galhas e de ovos, fator de reprodução em raízes de plantas originadas de sementes microbiolizadas com rizobactérias, mantidas em solo infestado com *M. graminicola* por 50 dias

Rizobactérias	Ensaio <i>in vitro</i>										Ensaio <i>in vivo</i>		
	Ecloração no 16º dia (%)					AACPE					Mortalidade		
	Ovos imaturos	Ovos maduros	Ovos imaturos	Ovos maduros	Ovos imaturos	Ovos maduros	Ovos imaturos	Ovos maduros	24 horas	48 horas	Nº de galhas	Nº de ovos	Fator de reprodução
DFs185	44,6d *	52,9bc	306,5c	479,9cde	306,5c	479,9cde	8,5de	52,5ab	219,0d	244555b	48,9b		
DFs223	55,0b	45,0d	389,7b	457,8de	389,7b	457,8de	28,0a	49,5bc	163,7f	236388b	47,3b		
DFs306	50,8bc	48,8cd	374,4b	442,3e	374,4b	442,3e	24,5ab	44,5cd	261,8c	270666b	54,1b		
DFs416	52,1b	47,1d	453,7a	476,4cde	453,7a	476,4cde	29,5a	58,5a	196,0e	258388b	51,9b		
DFs418	46,2d	52,1bc	403,8b	531,5bc	403,8b	531,5bc	18,0bc	45,0cd	261,8c	289444b	57,9b		
DFs419	52,5b	56,3b	414,8b	560,9b	414,8b	560,9b	29,0a	46,0bcd	266,3c	272277b	54,5b		
DFs422	47,1cd	52,1bc	404,6b	534,4bc	404,6b	534,4bc	13,0cd	35,5e	352,2b	259611b	51,9b		
DFs471	53,7b	53,3bc	395,3b	515,4bcd	395,3b	515,4bcd	15,0c	40,5de	278,2c	275444b	55,1b		
Testemunha	60,8a	66,6a	476,1a	642,6a	476,1a	642,6a	6,5e	5,0f	427,3a	370000a	74,0a		
CV**	3,67**	3,8**	6,5**	7,7**	6,5**	7,7**	16,4**	6,9**	16,6**	8,8**	2,8		

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade

\*\* Coeficiente de variação dos valores transformados para  $\sqrt{x+1}$

produziram proteases a partir dos substratos leite e gelatina. As rizobactérias DFs185, DFs223 e DFs418 produziram sideróforos, e a bactéria DFs223 foi a única a produzir lipases. Nenhuma das rizobactérias avaliadas foi capaz de produzir quitinases ou fosfatases.

Nenhum dos tratamentos bacterianos proporcionou ganhos com relação ao crescimento das plantas (dados não apresentados). Entretanto, verificou-se que todas as rizobactérias reduziram NG e NO e, conseqüentemente, a reprodução do nematoide nas plantas. A microbiolização das sementes com as bactérias DFs416 e DFs223 resultou em maiores reduções de NG, alcançando-se 62 e 54%, respectivamente. Para NO e FR, os tratamentos bacterianos não diferiram entre si, mas diferiram da testemunha (supressão média de 29%).

A redução da eclosão e o aumento da mortalidade proporcionados pelas bactérias, como observados no presente trabalho, são conhecidos. A redução da eclosão de J2 de *M. graminicola* também foi observada por Padgham & Sikora (2007), quando avaliaram o efeito de *Bacillus megaterium* de Bary sobre *M. graminicola*. A inibição da eclosão em laboratório foi observada em outras espécies de *Meloidogyne* e com outras rizobactérias (Fabry et al., 2007). Aumento da mortalidade dos J2 de *M. graminicola* proporcionado por maior período de exposição (48 horas) também já foi relatado por Naves et al. (2004) para outras espécies.

Efeito positivo da microbiolização das sementes foi observado para todas as rizobactérias avaliadas, principalmente quanto à redução de NG (DFs223, DFs416 e DFs185) corroborando com os dados obtidos por Souza-Júnior et al. (2010). Estes autores avaliaram as mesmas bactérias do presente trabalho, individualmente e em diferentes combinações, e verificaram que estas apresentavam alta capacidade de redução de danos e de reprodução do nematoide das galhas em arroz, assim como que a combinação entre elas não resultou em maior controle, embora tenha promovido o crescimento da parte aérea.

Os resultados obtidos em casa de vegetação estão em concordância com o observado *in vitro*, exceto para DFs223. Portanto, parte do efeito da microbiolização das sementes pode ser atribuída ao aumento da mortalidade e à redução da eclosão. Porém, não foi observada correlação com a produção das enzimas e sideróforos pelas rizobactérias nos estudos de biocontrole *in vitro*. Neste sentido, os resultados não reproduzem o relatado por Westcott & Kluepfel (1993) que verificaram ação *in vitro* de dois isolados de *Pseudomonas aureofaciens* Kluver sobre ovos, J2 e adultos de *Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & De Grisse e atribuíram o efeito a enzimas produzidas por estas bactérias. Por outro lado, as bactérias utilizadas no presente trabalho produzem compostos bioativos contra patógenos da parte aérea de arroz (Ludwig & Moura, 2009). Portanto, há a possibilidade destas bactérias atuarem por antibiose sobre os J2 de *M. graminicola*.

Ao se considerar o experimento em casa de vegetação, a competição, mediada pela colonização dos tecidos, pode estar envolvida, respaldada pelo fato de que as bactérias utilizadas são capazes de colonizar raízes da cultivar El Passo L144 (Ludwig

& Moura, 2009). Portanto, há razões para crer que as bactérias avaliadas possam se estabelecer no sistema radicular, passando a competir por espaço e nutrientes, limitando a reprodução do patógeno. Este comportamento foi observado por Al-Rehiyani et al. (1999) que relataram a redução na penetração de *M. chitwoodi* Golden e *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Chitwood & Oteifa em raízes de batata na presença de *B. megaterium*. A colonização de raízes também pode afetar a composição dos exsudatos radiculares, e como consequência não haver o reconhecimento do estímulo quimiotrópico pelo nematoide, reduzindo assim a infectividade e, conseqüentemente, NG, NO e FR (Araújo et al., 2002).

É possível aventar que a indução de resistência também tenha levado ao controle observado em casa de vegetação. Esta possibilidade é sustentada pelo fato de a bactéria DFs306, em trabalho realizado por Ludwig e Moura (2009), ter aumentado a atividade de peroxidases quando plantas de arroz originadas de sementes microbiolizadas foram inoculadas com patógenos fúngicos de arroz. Neste sentido, o controle de *M. graminicola* em plantas de arroz tratadas com óleos essenciais também foi relacionado, entre outros fatores, ao aumento de peroxidases (Steffen et al., 2008).

Resultados como os do presente trabalho são conhecidos. Biocontroladores dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus* já demonstraram potencial de reduzir nematoides em várias culturas quando aplicados diretamente no solo ou microbiolizados às sementes. Espécies de *Bacillus* foram utilizadas com sucesso em porta enxertos de pêssego, reduzindo em 67% o número de galhas de *M. javanica* (Treub) Chitwood (Alcals, 2007); espécies de *Pseudomonas* controlaram *M. incognita* em tomate (Kaşkavalci et al., 2006).

As rizobactérias aqui estudadas apresentam potencial de uso, principalmente porque não existe outra medida viável para o controle dessa nematose. Embora o impacto sobre o fator de reprodução não tenha sido elevado, esse potencial é sustentado pelo fato de essas rizobactérias serem capazes de controlar eficientemente doenças fúngicas em arroz (Ludwig & Moura, 2007; Ludwig et al., 2009); assim, o controle do nematoide é considerado um ganho adicional.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão das bolsas de Doutorado e Produtividade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcals LA (2007) Characterization and efficacy of bacterial strains for biological control of soil-borne diseases caused by *Phytophthora cactorum* and *Meloidogyne javanica* on rosaceous plants. Tese de Doutorado, Universitat de Girona. Girona Espanha.
- Al-Rehiyani S, Hafez SL, Thornton M, Sundararaj P (1999) Effects of *Pratylenchus neglectus*, *Bacillus megaterium*, and oil radish or rapeseed green manure on reproductive potential of *Meloidogyne chitwoodi* on potato. *Nematopica* 29:37-49.

- Araujo FF, Silva JFV, Araujo ASF (2002) Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. *Ciência Rural* 32:197-203.
- Becker JO, Zavaleta-Mejia E, Colbert SF, Schroth MN, Weinhold AR, Hancock JG, Van Gundy SD (1988) Effect of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. *Phytopathology* 78:1466-1469.
- Bridge J, Page SLJ (1982) The rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, on deep water rice (*Oryza sativa* subsp. *indica*). *Revue de Nématologie* 5:225-232.
- Carneiro RMD, Gomes CB (1993) Metodologia e testes de patogenicidade de *Paecilomyces lilacinus* e *P. fumosoroseus* em ovos de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira* 17:66-75.
- Cattelan AJ (1999) Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal. Londrina PR. Embrapa Soja. (Documentos 139).
- Chen SY, Dickson DW (2000) A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 32:117-121.
- Christie JR, Perry VG (1951) Removing nematodes from soil. *Proceedings of Helminthological Society of Washington* 18:106-108.
- Dabur KR, Taya AS, Bajaj HK (2004) Life cycle of *Meloidogyne graminicola* on paddy and its host range studies. *Indian Journal of Nematology* 34:80-84.
- Dong LQ, Zhang KQ (2006) Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. *Plant and Soil* 288:31-45.
- Fabry CFS, Freitas LG, Neves WS, Coutinho MM, Totola MR, Oliveira JR, Giaretta, RD, Ferraz S (2007) Obtenção de bactérias para a o biocontrole de *Meloidogyne javanica* por meio de aquecimento de solo e tratamento com filtrado de raízes de plantas antagonistas a fitonematoides. *Fitopatologia Brasileira* 32:79-82.
- Hussey RS, Baker KR (1973) A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* species, including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57:1025-1028.
- Kado CI, Heskett MS (1970) Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60:969-976.
- Kaşkavalci G, Özaktan H, Hatipoğlu A, Uslu A (2006) Preliminary investigations on suppression of *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Heteroderidae) by antagonistic rhizobacteria. *Turkish Journal of Entomology* 30:173-182.
- Lian LH, Tian BY, Xiong R, Zhu MZ, Xu J, Zhang KQ (2007) Proteases from *Bacillus*: a new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. *Letters in Applied Microbiology* 45:262-269.
- Ludwig J, Moura AB (2007) Controle biológico da queima-das-bainhas em arroz pela microbiolização de sementes com bactérias antagonistas. *Fitopatologia Brasileira* 32:48-53.
- Ludwig J, Moura AB, Santos AS, Ribeiro AS (2009) Microbiolização de sementes para o biocontrole da mancha-parda e da escaldadura em arroz irrigado. *Tropical Plant Pathology* 34:322-328.
- Ludwig J, Moura AB (2009) Controle biológico de *Bipolaris oryzae*. In: Bettiol W, Morandi MAB (Eds.) *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna SP. Embrapa Meio Ambiente. pp. 317-330.
- Naves RL, Campos VP, Souza RM (2004) Filtrados de culturas bacterianas endofíticas na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. *Fitopatologia Brasileira* 29:384-388.
- Nordmeyer D, Dickson DW (1985) Management of *Meloidogyne javanica*, *M. arenaria* and *M. incognita* on flue-cured tobacco with organophosphate, carbamate, and avermectin nematicides. *Plant Disease* 69:67-69.
- Oostendorp M, Sikora RA (1990) *In vitro* interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. *Revue de Nématologie* 13:269-274.
- Padgham JL, Sikora JL (2007) Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. *Crop Protection* 26:971-977.
- Roy AK (1982) Survival of *Meloidogyne graminicola* eggs under different moisture conditions *in vitro*. *Nematologia Mediterranea* 10:221-222.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W (2001) *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. 3ª ed. St. Paul MN, USA. APS Press.
- Soriano IR, Reversat G (2003) Management of *Meloidogyne graminicola* and yield of upland rice in South-Luzon (Philippines). *Nematology* 5:879-884.
- Souza-Júnior IT, Moura AB, Shafer JT, Corrêa BO, Gomes CB (2010) Biocontrole da queima das bainhas e do nematóide das galhas e promoção de crescimento de plantas de arroz por rizobactérias. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45:1259-1267.
- Steffen RB, Antonioli ZI, Bosenbecker VK, Steffen GPK, Lupatini M, Campos AD, Gomes CB (2008) Avaliação de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne graminicola* em arroz irrigado. *Nematologia Brasileira* 32:127-135.
- Westcott SW, Kluepfel D (1993) Inhibition of *Criconemella xenoplax* egg hatch by *Pseudomonas aureofaciens*. *Phytopathology* 83:1245-1249.